

Katowice, 20.06.2022 r.

R E C E N Z J A

rozprawy doktorskiej mgr URSZULI SEMENIUK zatytułowanej „Ocena stężenia serotoniny i histaminy w szpiku kostnym pacjentów z chorobami hematologicznymi”.

Choroby hematologiczne stanowią bardzo zróżnicowaną grupę schorzeń, choć wszystkie wywodzą się z komórek powstających i różnicujących się w szpiku kostnym. Proces różnicowania poszczególnych elementów morfotycznych krwi jest niezwykle skomplikowany i kontrolowany przez sekwencyjną ekspresję specyficznych receptorów i oddziałujących z nimi ligandów. Potwierdzona obecność receptorów błonowych dla histaminy i serotoniny na komórkach szeregu hematopoezy świadczy, że związki te niewątpliwie odgrywają tutaj znaczącą rolę. Wiarygodna ocena ich stężenia w tak wrażliwym materiale jak szpik kostny to zadanie niewątpliwie trudne, aczkolwiek niezmiernie ważne w kontekście ciągle trwających intensywnych badań nad mechanizmami patogenezy poszczególnych jednostek chorobowych oraz poszukiwania nowych markerów w ich skomplikowanej diagnostyce.

Dlatego też podjęcie przez doktorantkę przedstawionej w tytule pracy tematyki uważam, za w pełni zasadne i o dużym znaczeniu poznawczym, a potencjalnie także użytkowym.

Układ rozprawy liczącej 115 stron obejmujący takie zasadnicze rozdziały jak: Wstęp – 22 strony, Założenia i cel pracy – 2 strony, Materiał i metody – 15 stron, Wyniki – 36 stron, Dyskusja – 13 stron, Wnioski – 1 strona, Streszczenie w języku polskim i angielskim – 4 strony, posiada właściwe proporcje, jest logiczny i przejrzysty. Cytowane piśmiennictwo liczące 116 pozycji zostało właściwie dobrane i uwzględnia najnowsze pozycje w omawianej dziedzinie (niemal połowa to prace z ostatnich 5 lat). Pracę uzupełnia wykaz stosowanych skrótów oraz spis zawartych w dysertacji 23 tabel i 28 rycin.

W rozbudowanym wstępie Doktorantka szczegółowo opisuje obie z analizowanych w pracy amin biogennych, a także przedstawia krótką charakterystykę szpiku oraz chorób hematologicznych rozpatrywanych w dalszej części pracy. Ważną częścią wstępu jest podrozdział poświęcony zastosowanym w pracy metodom analitycznym. W bardzo rzeczowy, a jednocześnie przystępny sposób autorka przedstawia w nim technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej połączonej ze spektroskopią mas (LC-MS) i jej możliwymi wariantami, w tym z zastosowaniem chromatografii oddziaływań hydrofilowych (HILIC) i metody elektrorozpylania (ESI).

Omówione w tej części pracy tematy świadczą o znakomitym przygotowaniu teoretycznym doktorantki do podjęcia się niełatwego zadania jakim była ocena stężenia dwu amin biogennych, histaminy i serotoniny, w szpiku kostnym pobieranym od pacjentów z chorobami hematologicznymi. Punktem wyjścia, a jednocześnie pierwszym założonym celem pracy było opracowanie selektywnej procedury analitycznej pozwalającej na jednoczesne oznaczenie histaminy i serotoniny w szpiku kostnym z wykorzystaniem techniki chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas. Jego osiągnięcie warunkowało realizację dwu kolejnych celów badawczych, którymi była ocena stężenia obu wymienionych amin biogennych w szpiku kostnym pacjentów z chorobami hematologicznymi z podziałem na sześć różnych jednostek chorobowych oraz ocena korelacji uzyskanych wyników z parametrami morfologii krwi obwodowej w badanych grupach pacjentów.

Materiał do badań stanowił szpik kostny (łącznie sto próbek) pobierany od pacjentów Kliniki Hematologii, Onkologii i Radioterapii Uniwersytetu Zielonogórskiego Wielospecjalistycznego Szpitala Wojewódzkiego w Gorzowie Wielkopolskim. Wszystkie procedury w części metodycznej, w tym przygotowanie próbek do analizy, charakterystyka i przygotowanie zestawu analitycznego LC/MS-MS, wyznaczenie krzywych kalibracyjnych i szeregu innych parametrów walidacyjnych opisane są tak szczegółowo, że w oparciu o nie każde z laboratoriów (dysponujących odpowiednim sprzętem) może powtórzyć i zweryfikować otrzymane przez Doktorantkę rezultaty.

Otrzymane wyniki po adekwatnej analizie statystycznej zostały właściwie opisane i przedstawione w postaci 11 tabel i korespondujących z nimi rycin, co

znacznie ułatwia ich analizę. Wskazują one, że wykorzystując opracowaną przez Doktorantkę metodykę można w jednym cyklu analitycznym wiarygodnie oznaczyć w szpiku kostnym zarówno stężenie histaminy jak i serotoniny, aczkolwiek w przypadku serotoniny są to wartości bardzo małe (jedynie 17% badanych próbek szpiku powyżej dolnej granicy oznaczalności).

Niezwykle ciekawe są wyniki analizy zależności między oznaczonymi stężeniami badanych amin biogennych w szpiku, a grupami chorób hematologicznych oraz wartościami parametrów morfologii krwi obwodowej. Największe stężenia histaminy Doktorantka odnotowała w próbkach szpiku od pacjentów z mastocytozą, a także, choć w mniejszym stopniu, z nowotworami mieloproliferacyjnymi. Potwierdzenie tych wyników u większej ilości pacjentów z mastocytozą (w pracy przebadano jedynie 2 przypadki) świadczyłoby o niewątpliwej przydatności oznaczania histaminy w szpiku jako potencjalnego biomarkera tego schorzenia. Przy porównaniu otrzymanych wyników z parametrami morfologii krwi zwraca uwagę statystycznie znamiennej pozytywnej korelacji stężenia histaminy w szpiku, z liczbą białych krwinek (WBC) w krwi obwodowej, przy jednoczesnej ujemnej korelacji z liczbą limfocytów. Zależność niezwykle istotna aczkolwiek nie znalazłem w tekście pracy wyjaśnienia/sugestii, która z populacji krwinek białych odpowiedzialna może być za ogólny wzrost liczby WBC we krwi przy tak znacznym (zwłaszcza przy dużych stężeniach histaminy) spadku liczby limfocytów, które normalnie stanowią ok. 20-30% wszystkich WBC.

Mocną stroną pracy jest dyskusja, w której autorka konfrontuje wyniki badań własnych z otrzymanymi przez innych autorów. Z tego zadania Doktorantka wywiązała się bardzo dobrze prowadząc dyskusję w oparciu o najnowsze doniesienia światowego piśmiennictwa i dowodząc, z jaką łatwością porusza się w temacie będącym podstawą jej pracy doktorskiej. Lektura dyskusji uświadamia także czytelnikowi jaki ogrom pracy włożyła autorka w przygotowanie i dopracowanie metodyki jednoczesnego oznaczania histaminy i serotoniny w szpiku kostnym aby mogła się ona stać potencjalną metodą referencyjną.

W podsumowaniu swej pracy doktorantka wysnuwa 5 wniosków, które mają silne oparcie w otrzymanych wynikach i odpowiadają na postawione wcześniej cele.

Niewątpliwą zasługą autorki jest, że pracę, która zawiera opisy skomplikowanych procedur eksperymentalnych, czyta się łatwo i wciąga ona czytelnika. Błędy natury edytorskiej są nieliczne, czasami wkrada się slang jak chociażby cyt. ” na poziomie niskich mikrogramów” (str.9) czy stwierdzenie, że tkanka tłuszczowa zajmuje nawet cyt. „do 90% powierzchni szpiku” (str.21) – powinno być objętości. Błędnie opisana jest tabela 19 dotycząca parametrów krwi obwodowej, a nie grup chorób hematologicznych. Przy opisie wyników przedstawionych na rycinach 13 i 14 oraz w tabeli 8 Doktorantka powołuje się na ryciny 14 i 16 oraz tabelę 7 (str. 48) co wprowadza nieco zamieszania. Nie umniejsza to jednak merytorycznej wartości pracy, która ponadto napisana jest ładnym, przystępnym językiem, co znacznie podnosi jej wartość.

Podsumowując chciałbym jednoznacznie stwierdzić, iż przedstawioną mi do oceny rozprawę mgr Urszuli Semeniuk oceniam bardzo pozytywnie. Sposób zaplanowania eksperymentu naukowego, profesjonalizm w dopracowaniu metodyki adekwatnej do osiągnięcia założonego celu, a przede wszystkim rzetelna analiza otrzymanych wyników i ich właściwa, choć ostrożna interpretacja wszystko to wskazuje, że jej autorka jest w pełni dojrzałym pracownikiem naukowym.

Mając na uwadze powyższe stwierdzam, że **recenzowana praca w pełni odpowiada warunkom określonym w art. 11 Ustawy o tytule naukowym i stopniach naukowych (Dz.U. nr 65/90 poz 386)** i zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie z wnioskiem o dopuszczenie mgr Urszuli Semeniuk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem,


Prof. dr hab. n. med. Ryszard Wiaderkiewicz